Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Ueber die piperidinartigen Wirkungen von Organextrakten auf die roten Blutkörperchen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der

Hohen medizinischen Fakultät der Universität Marburg

vorgelegt von

Walter Engelbrecht
aus Cassel.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

MARBURG
Buchdruckerei von Joh. Hamel
1920

Angenommen von der medizinischen Fakultät Marburg
am 8. November 1919.

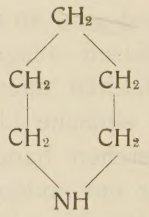
Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Referent: Herr Prof. Dr. Gürber.

Bei der Untersuchung der Lupetidine fand Gürber in den roten Blutkörperchen morphologische Veränderungen eigenartiger Natur, die er Vakuolen nannte und folgendermaßen beschreibt: „Im Wesentlichen bestehen nun die Veränderungen in den Blutkörperchen darin, daß die protoplasmatische Zone derselben an Stelle des homogenen Aussehens von einer Anzahl größerer oder kleinerer, heller, kreisförmiger Stellen besetzt ist. Daneben erleidet auch der Kern der Blutkörperchen sowohl in Bezug auf Größe und Gestalt als auch besonders hinsichtlich seiner Färbbarkeit die mannigfachsten Modificationen. Die hellen Stellen, mit keinem der gewöhnlichen Farbstoffe färbbar, erscheinen anfänglich wie Defecte in der Blutkörperchensubstanz und sind so regelmäßig, als wären sie mit einem Locheisen ausgestanzt worden. Bei etwas genauerem Hinsehen aber bemerkt man bald, daß es sich nicht um einfache Löcher in dem Protoplasma der Blutkörperchen handelt, sondern daß in dasselbe eine Substanz mit anderen physikalischen und chemischen Eigenschaften eingelagert ist. Die eigentliche Natur dieser Substanz habe ich noch nicht sicher erkannt, sie ist aber wahrscheinlich mucinösen Charakters. Ich nannte diese hellen Stellen Vacuolen, eine Bezeichnung, welche der Form und dem Wesen dieser Gebilde wohl am besten entspricht. Die Vacuolen sind sowohl in den frischen, wie in den gefärbten Präparaten gleich gut zu sehen.“

Dabei ergab sich eine Abhängigkeit der Wirkung von der Constitution in der Weise, daß die morpho-

logischen Veränderungen am stärksten beim Ausgangsglied, dem Piperidin, auftraten, während die höheren Homologen eine immer schwächere Wirkung zeigten, je länger die Kohlenwasserstoffkette wurde. Interessant dabei ist, daß die Eigenschaft der Substanzen, Vakuolen zu erzeugen, nicht parallel geht der Wirkungsstärke anderer Art, z. B. der Toxizität, wo gerade die höheren Homologen die giftigeren Körper sind, indem anfänglich die Giftigkeit in geometrischer Progression wächst. Der Zusammenhang zwischen Constitution und Wirkungsweise ist also derart, daß die allgemeinen Wirkungen von den Alkylgruppen, die morphologischen Veränderungen dagegen vom Kern abhängig erscheinen. Da der Ausgangskörper, das Piperidin selbst, in stärkstem Grade diese Vakuolenbildung hervorruft, so benutzte ich zu meinen Controll- und Vergleichsversuchen diesen Körper, dem folgende Strukturformel zukommt:



Auch von Ackeren verwandte bei seiner Arbeit das Piperidin und studierte die dadurch bedingten pathologischen Bildungen in den Blutkörperchen sämtlicher Wirbeltierklassen. Er stellte unter Gürber fest, daß die Säugetiere in ihren Blutkörperchen nach Vergiftung mit Piperidin keine Vakuolen aufwiesen, daß sie dagegen bei Vögeln, Reptilien und Amphibien zu beobachten waren. Bei Fischen kam es jedoch niemals zum Auftreten von Vakuolen, obgleich die all-

gemeine Giftigkeit des Piperidins für Fische eine sehr große war. Ueber den zeitlichen Ablauf der Vakuolenbildung und ihr Verschwinden teilte von Ackeren mit, daß die Veränderung der roten Blutkörperchen sehr rasch einsetzte: nach subkutauer Vergiftung bei Fröschen nach 70—80, nach 15 Minuten sogar bereits bei Tritonen. Diese Vakuolen halten sich bei Erholuug des Tieres ungefähr 10 Tage lang.

Gürber hatte im Verfolg seiner Untersuchungen gefunden, daß nicht nur das Piperidin Vakuolenbildung bedingte, sondern daß auch die pathologisch veränderten Blutkörperchen ihrerseits zu derselben Veränderung frischer Blutzellen führten. Fortgesetzte Untersuchungen ergaben, daß Extrakte solcher Blutkörperchen wirksam waren, ja auch Extrakte normaler Gewebselemente. Daher veranlaßte mich Herr Professor Gürber diesen Wirkungen in der folgenden Untersuchung nachzugeben.

Versuchsanordnung.

Zu meinen Versuchen verwandte ich Wasserfrösche, die auf ein Brett aufgespannt, durch Anschneiden eines Aorten-Bogens verblutet wurden. Um die Gerinnung des Blutes zu verhindern, wurde dasselbe in einem Glasgefäß mit etwas Natriumoxalat aufgefangen. Dieses Blut wurde mit den verschiedenen Flüssigkeiten in kleinen Gläschen, die mit Gummistopfen verschlossen waren, zusammengebracht, und bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Von Zeit zu Zeit entnahm ich den einzelnen Proben kleine Mengen zur mikroskopischen Untersuchung. Es zeigte sich dabei ein starker Einfluß der Temperatur. Die ersten Versuche, welche ich im Hochsommer anstellte, ließen eine außerordentlich viel raschere Entwicklung von Vakuolen erkennen als die in der kalten Jahreszeit

angestellten. Schon nach wenigen Stunden waren im Sommer wohl ausgebildete Vakuolen bemerkbar, während in der Kälte nach 24, ja nach 48 Stunden bei gleicher Versuchsanordnung noch keinerlei Anfänge davon zu sehen waren. Im gewärmten Raume dagegen bildeten sie sich in alter Größe und Schnelligkeit.

An dieser Stelle möchte ich noch hervorheben, daß auch ein spontanes Auftreten von Vakuolen im Froschblut vorkommt. Sie glichen in Gestalt und Aussehen genau den durch Piperidin erzeugten und wurden unmittelbar nach Entnahme des Blutes beobachtet. Gleichzeitig fanden sich ungewöhnlich viel Parasiten im Blute, die damit vielleicht in kausalem Zusammenhang stehen dürften.

Vorversuche:

Zum Vergleich stellte ich einige Präparate nach subkutaner Piperidinvergiftung von Fröschen aus ihrem Blute her. Ich benutzte zu diesen Versuchen eine 5% Piperidien-Chloridlösung. Hiervon wurde einem mittelgroßen Frosche mittels einer Pravazspritze zunächst 1 ccm in den Rückenlymphsack eingespritzt. Das entspricht der von Gürber für den Frosch mäßiger Größe angegebenen Maximaldosis von 0,05 g. Nach zunehmender Lähmung trat innerhalb von 24 Stunden der Tod ein. In den Blutkörperchen waren massenhaft Vakuolen nachweisbar. Auch nach Injektion von 0,75 ccm = 0,0375 g starb der Frosch am folgenden Tage. Das Blutbild war das gleiche wie beim ersten Versuche. Wurde 0,5 ccm = 0,025 g eingespritzt, so erholte sich der Frosch nach anfänglichen Lähmungserscheinungen am anderen Tage wieder. Die Vakuolenbildung dagegen wies gegenüber den Vortagen keine wesentliche Verminderung auf.

I. Versuche mit Piperidin.

Eine erste Versuchsreihe sollte darüber orientieren, ob das Piperidin, zum Blute außerhalb des Körpers zugesetzt, die gleichen morphologischen Veränderungen hervorbringt wie bei der Vergiftung am ganzen Tier. Zu diesem Zwecke versetzte ich das frisch entnommene Blut mit Piperidinlösung verschiedener Conzentration, und zwar wurde immer 0,2 ccm Blut und 0,3 ccm Giftlösung verwandt. Aus nachstehender Tabelle geht hervor, daß eine 1 ‰ Lösung und Blut im Mengenverhältnis 3:2 die stärkste und schönste Vakuolenbildung auslöst.

Concentration der Piperidenlösung	Piperidingehalt der Mischung	Vakuolenbildung nach		
		2 h	4 h	24 h
1 : 500	0,006	50 %	75 %	75 %
1 : 1000	0,003	50 %	75 %	100 %
1 : 5000	0,0006	< 50 %	50 %	50 %
1 : 13000	0,0003	—	< 50 %	50 %
1 : 50000	0,00006	—	< 50 %	50 %

Ein Controllversuch mit Ringerlösung zeigte nur vereinzelte Vakuolen. Sie waren hierbei meistens um den Kern gruppiert, so daß es den Eindruck machte, als ginge ihre Bildung von diesem aus. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Vakuolen umso später und spärlicher erschienen, je verdünnter die Lösung war; jedoch traten sie auf, selbst wenn nur noch Spuren von Piperidin vorhanden waren.

Er wirkt also auch Piperidin außerhalb des Körpers mit Blutzellen zusammengebracht vakuolenbildend auf diese.

II. Nachweis der wirksamen Substanz in dem veränderten Blute.

Ich ging nunmehr dem Verbleib des Piperidins nach, indem ich prüfte, ob sich im veränderten Blute Piperidin nachweisen ließe. Bei der subkutanen Vergiftung konnte im Blute nach 24 Stunden kein Piperidin chemisch festgestellt werden, wie von Ackeren beschreibt. Auch rief der Rückstand des Destillates des Blutes am ganzen Tiere keine morphologischen Veränderungen hervor.

Anders verläuft der Versuch, wenn man im Reagenzglas Blut und Piperidinlösung zusammenbringt:

Es wurde von 2 großen Fröschen 6 ccm Blut gewonnen und diesem 9 ccm einer 1 ‰ Piperidinlösung hinzugefügt (stärkste Vakuolenbildung; vergl. Tabelle). Nach 24 Stunden waren massenhaft kleinste bis größte Vakuolen, 10—15 in jedem Blutkörperchen entstanden. Das Blut wurde zentrifugiert und das Serum von den Blutkörperchen abgehoben.

a) Blutkörperchen.

Diese wurden durch mehrfaches Zentrifugieren mit immer frischer Ringerlösung gewaschen, um sie von den Resten des Serums zu befreien. Dabei wurde 0,8 ccm Blutkörperchenbrei gewonnen, der mit 20 ccm Wasser und zur Herstellung alkalischer Reaktion mit einem Tropfen NaOH versetzt wurde. Zu dieser Blutkörperchenlösung wurde alsdann im Scheidetrichter die gleiche Menge Aether hinzugefügt und ausgeschüttelt. Nach Trennung des Aethers vom Wasser wurde er in einem Uhrschälchen an der Luft verdunstet und der Rückstand in 1 ccm Ringer gelöst. Nach Zusatz von gleicher Menge frischen Froschblutes zeigten sich nach 24 Stunden in jedem Blutkörperchen zahlreiche Vakuolen.

Die wässrige Blutkörperchenlösung, die nach der Aetherextraktion zurückblieb, löste dagegen in frischen Blutzellen keinerlei Vakuolenbildung mehr aus.

Es war also die wirksame Substanz ans den veränderten Blutkörperchen herauszulösen, und zwar ging sie in Aether über. Dabei handelt es sich vermutlich um das Piperidin selbst, und dieser Versuch ist deswegen als Controlle von Bedeutung, weil ähnliche Versuche, beim Organbrei die wirksame Substanz oder deren Ueberschuß auf solche Weise zu gewinnen, fehlschlugen.

b) Serum:

Das von den vakuolenhaltigen Blutkörperchen abgehobene und durch die Piperidenlösung verdünnte Serum wurde wieder mit der gleichen Menge Blutkörperchen versetzt, die ich durch Zentrifugieren frischen Froschblutes und Entfernen des eigenen Serums erhalten hatte. Nach 24 Stunden war in jedem Blutkörperchen reichliche Vakuolenbildung zu verzeichnen.

III. Versuch, die wirksame Piperidinlösung zu erschöpfen.

Da das Piperidin bei der Veränderung der Blutkörperchen wohl eine Festlegung erleidet, so muß es sich durch fortgesetzten Zusatz frischen Blutes erschöpfen lassen. Es wurde also die Piperidinlösung des vorigen Versuches, welche schon 2 mal im frischen Blute Vakuolenbildung hervorgerufen hatte, wiederum von den Blutkörperchen durch Zentrifugieren getrennt und abgehoben, und ihr alle Tage frischer Blutkörperchenbrei zugesetzt, welcher jedesmal vor neuem Zusatz wieder entfernt wurde. Es kam also die Flüssigkeit täglich mit frischen Blutkörperchen in

Berührung und konnte so einen Teil des Piperidins an diese abgeben. 24 Stunden, nach dem ersten Zusatz frischer Blutzellen sah ich in 85% aller Blutkörperchen Vakuolen. Von Tag zu Tag zeigte sich nun ein Rückgang der Vakuolenbildung, bis sie am 6. Tage ganz ausblieb, d. h. das Piperidin des Serums hatte sich erschöpft. Es mußte in irgend einer Form in den Zellen, deren morphologischen Bau es verändert hatte, fixiert worden sein.

IV. Versuche mit Organextrakten.

Die Versuche, Organextrakte auf Blutkörperchen wirken zu lassen, wurden in der Weise angestellt, daß die Organe des Frosches nach seiner Ausblutung zerkleinert und mit Seesand verrieben wurden. Dann wurde durch Zufügen einiger ccm Ringerlösung ein Brei hergestellt, der gekocht und filtriert wurde. Dieser wässrige Organextrakt gelangte zur Prüfung seiner Wirksamkeit auf rote Blutkörperchen.

Die Vakuolen, welche dabei entstanden, wiesen gegenüber den durch Piperidinlösung hervorgerufenen keinerlei Unterschiede auf, weder in Form und Größe noch in ihrer Lagerung. Ihre Entstehung wurde unter dem Mikroskop verfolgt; sie wies nur eine geringe Verspätung gegenüber dem Auftreten bei Piperidinlösung auf. Sonst verlief sie in gleicher Weise. Man konnte bald kleine, helle Punkte wahrnehmen, die scheinbar den Blutkörperchen aufgelagert waren, sich in Wirklichkeit aber in ihrem Inneren befanden. Sie lagen häufig kettenförmig an der Peripherie oder auch am Kern, führten mitunter lebhafte, schwingende Bewegungen aus, und wanderten wohl auch am Rande des Protoplasmas entlang. Später schienen sie mit-

einander zu verschmelzen und zu zuerst kleineren, dann größeren Vakuolen zu werden.

Dabei veränderte der Kern seine Gestalt regelmäßig; er verlor seine ovale, glatte Umrandung, wurde kleiner, rund und zackig konturiert.

a) Muskelextrakt.

Die Muskulatur eines mittelgroßen Frosches wurde gut zerrieben, mit einigen ccm Ringerlösung versetzt, gekocht und filtriert. Vom Filtrat wurden 4 verschiedene Proben von 1, 2, 3 und 4 ccm hergestellt und jede mit Ringerlösung auf 4 ccm aufgefüllt. Wurde nun zu jeder Probe ein Tropfen Froschblut hinzugefügt, so begann bereits nach 4 Stunden Vakuolenbildung, die nach 24 Stunden ihren Höhepunkt erreicht hatte. Die Zählung der Vakuolen im Gesichtsfeld ergab folgende überraschende Verhältnisse:

1. In der stärksten Lösung von 4 ccm Muskelextrakt sah ich auf 100 Blutkörperchen 18 vakuolenhaltige = 18 %.

2. In der Lösung von 3 ccm Muskelextrakt und 1 ccm Ringerlösung kamen auf 80 Blutkörperchen 30 mit Vakuolen = 37,5 %.

3. In der Lösung von 2 ccm Muskelextrakt und 2 ccm Ringerlösung sah ich auf 50 Blutkörperchen 30 mit Vakuolen = 60 %.

4. In der schwächsten Lösung von nur 1 ccm Muskelextrakt auf 3 ccm Ringerlösung kamen auf 25 Blutkörperchen 19 mit Vakuolen = 76 %.

b) Leber.

In ganz der gleichen Weise wie mit der Muskulatur wurden nun auch Versuche mit der Leber angestellt. Die Wirksamkeit dieses Extraktes war aber bei weitem geringer, sowohl was das zeitliche Auftreten

der Vakuolen anlangt, als auch die Zahl der veränderten Blutkörperchen. Nach 4 Stunden wiesen die roten Blutzellen noch keinerlei Veränderung auf. Erst nach 24 Stunden waren auch hier vakuolenhaltige Blutkörperchen zu erkennnn und zwar auch hier wieder in der stärksten Conzentration der Lösung wenige, etwa 5—10 vakuolenhaltige auf 100 rote Blutkörperchen; in den stärkeren Verdünnungen stieg der Prozentsatz der pathologisch veränderten Blutzellen allmählich an.

c) Gehirn und Rückenmark.

Der Extrakt von Gehirn und Rückenmark erwies sich als sehr stark wirksam. Bereits nach 1 Stunde sah man Anfänge von Vakuolen, und sie wurden nach 6 und 24 Stunden so reichlich, daß in jedem Blutkörperchen 15—20 oft sehr große Vakuolen sichtbar waren, die teils einzeln, teils in Ketten, oft rund um die Peripherie herum angeordnet waren.

Nachfolgende Tabelle zeigt den Prozentgehalt des Blutes an vakuolenhaltigen Blutkörperchen bei der verschiedenen Conzentration der Lösung und den verschiedenen Organextrakten:

Verdünnung der Lösung	Prozentgehalt an vakuolenhaltigen Blutkörperchen bei Extrakten von:		
	Muskeln	Gehirn u. Rückenmark	Leber
1/1	18 %	29 %	8 %
3/4	37,5 %	51 %	24,5 %
1/2	60 %	78,5 %	51 %
1/4	76 %	100 %	61 %
Erstes Auftreten von Vakuolen	nach 4 Std.	nach 1 Std.	nach 8 Std.

Es ergab sich also zunächst die Tatsache, daß auch Organextrakte eine morphologische Veränderung

an Zellen desselben Tieres, dem die Organe entnommen sind, hervorrufen können, und zwar eine morphologische Veränderung, welche durch ein chemisch wohl definiertes Gift in gleicher Weise auftritt. Dabei zeigten sich die verschiedenen Organe nicht gleich wirksam, sondern es übertraf das Nervengewebe die anderen Organe bei weitem. Das wirksame Agens dabei ist thermostabil, kann also durch Kochen nicht zerstört werden, und findet sich im Filtrat der Extrakte vor. Diese beiden Eigenschaften, die Thermostabilität einerseits und das reichliche Vorkommen im Nervengewebe andererseits deuteten auf einen lipoiden Körper, weswegen die weiter unten beschriebenen Versuche angestellt wurden.

V. Erschöpfungsversuch.

Ich versuchte nun die Wirksamkeit der wässrigen Extrakte durch immer erneuten Zusatz von Blutkörperchenbrei zu erschöpfen in ganz der gleichen Weise, wie ich dies oben mit der Piperidenlösung getan hatte. Dazu verwandte ich Extrakt von Gehirn und Rückenmark, der bekanntlich eine hervorragende Wirksamkeit aufwies. Am ersten Tage enthielten 85 % aller Blutkörperchen Vakuolen. Von nun an nahm die Prozentzahl der pathologisch veränderten Blutzellen dauernd ab, wenn immer wieder das Gemisch zentrifugiert und die wässrige Flüssigkeit täglich mit neuem Blutkörperchenbrei versetzt wurde. Am 5. Tage war keine Veränderung der Blutzellen mehr nachzuweisen. Die Wirksamkeit des Extraktes war somit erschöpft.

Aus nachstehender Tabelle ist der Prozentgehalt der vakuolenhaltigen Blutkörperchen zu erkennen:

Tag	Prozentgehalt an vakuolenhaltigen Blutkörperchen.
1	85 %
2	80 %
3	40 %
4	25 %
5	0 %

Es lag nun auch die Möglichkeit vor, daß es sich hierbei nicht um ein Aufbrauchen der wirksamen Substanz handelte, sondern daß durch ein Altern der Lösung eine Zersetzung des wirksamen Körpers stattfinden könnte. Daher wurde in einem neuen Versuch der Extrakt von Gehirn und Rückenmark in zwei Hälften geteilt. Der erste Teil wurde, wie eben beschrieben, mit täglich frischem Blutkörperchenbrei beschickt. Die andere Hälfte blieb unter gleichen Bedingungen stehen; nur wurden täglich einige Tropfen mit frischem Blut zusammengebracht, um festzustellen, ob der Extrakt seine alte Wirksamkeit noch bewahrt hatte. Die erste Hälfte war wie im vorigen Versuch am 5. Tage erschöpft, rief also in dem zugesetzten Blutkörperchenbrei keine morphologischen Veränderungen hehr hervor, während die zweite Hälfte am 5. Tage die gleich starke Vakuolenbildung bewirkte wie am Anfang, und ebenso auch noch am 6. Tage.

Damit war erwiesen, daß der wirksame Bestandteil des Extraktes sich nicht von selbst erschöpft, sondern an die roten Blutkörperchen fixiert wird.

VI. Versuch zur Isolierung der wirksamen Substanz durch Ausaethern.

Wie oben schon erwähnt, deutete die Kochbeständigkeit und die starke Wirksamkeit des Extraktes

aus Nervensubstanz darauf hin, daß die wirksame Substanz lipoiden Charakter besitzen könnte. Es wurde daher versucht, diesen wirksamen Stoff durch Aether aus dem wässrigen Extrakt herauszulösen. Und zwar schüttelte ich das Filtrat des gekochten, wässrigen Gehirn- und Rückenmarkextraktes in einem kleinen Scheidetrichter fünfmal mit der gleichen Menge Aether aus, sammelte die Aetherportionen und überließ sie in einem Glasschälchen der freiwilligen Verdunstung. Der Rückstand wurde in einigen Tropfen Ringerlösung gelöst und mit frischem Froschblut versetzt. Nach 24, ja selbst nach 48 Stunden war keinerlei Veränderung an den Blutzellen zu bemerken.

Dagegen ließ sich der wirksame Stoff auch nach dem Ausschütteln mit Aether in der wässrigen Phase nachweisen. Nach Verdunsten des im Wasser gelösten Aethers wurde zu diesem Extrakt frisches Froschblut hinzugefügt: und wiederum trat nach 24 Stunden Vakuolenbildung auf.

Es ist also der wirksame Stoff aus dem Extrakt nicht in den Aether übergegangen, sondern im Wasser verblieben.

VII. Versuch, den wirksamen Stoff aus den morphologisch veränderten Blutkörperchen wieder herauszulösen.

Unsere Erschöpfungsversuche hatten erwiesen, daß das wirksame Agens an die roten Blutkörperchen fixiert worden war. Es wurde nun geprüft, ob sich diese fixierte Substanz aus den morphologisch veränderten Blutkörperchen wieder herauslösen ließ, respektive, ob ein Ueberschuß gebundener, wirksamer Substanz aus den Blutzellen wieder zu erhalten war. Es wurden

daher frische Blutkörperchen eine Stunde lang mit Gehirn- und Rückenmarkextrakt zusammengebracht, ohne daß sichtbare Vakuolen nachzuweisen waren. Hierauf wurden die Blutkörperchen mehrmals mit neuer Ringerlösung gewaschen und mit frischer Ringerlösung stehen gelassen. Nach 24 Stunden zeigten sich Vakuolenbildungen. Brachte man zu dieser Ringerlösung frische Blutkörperchen, so waren nach 24 Stunden ebenfalls wieder Vakuolen entstanden.

Dieser Versuch zeigt, daß schon die Zeit von einer Stunde genügt haben mußte, den wirksamen Stoff an den roten Blutkörperchen zu fixieren und nach 24 Stunden Vakuolenbildung auszulösen. Ferner zeigt er, daß der wirksame Stoff wieder in eine frische Ringerlösung übertritt, die man mit den Blutkörperchen in Berührung bringt. Dieser Uebertritt geht keineswegs sehr schnell vonstatten; denn sonst würde der Vorrat der roten Blutzellen an wirksamem Stoff schon durch das mehrfache Waschen mit Ringerlösung an diese abgegeben worden sein und also in der zum Schluß zugesetzten Ringerlösung nicht mehr nachgewiesen werden können. Es muß sich also hierbei um ein verhältnismäßig langsam vor sich gehendes Einstellen eines Gleichgewichtszustandes handeln.

Es zeigt sich also, daß die so auffälligen morphologischen Veränderungen, die das Piperidin an den Blutzellen hervorruft, nicht nur die Folge einer spezifischen Giftwirkung sind, sondern daß dieselben Veränderungen auch durch Berühren der Blutzellen mit Organextrakten zustande kommen. Und zwar traten diese Vakuolenbildungen in der gleichen Weise wie beim Piperidin nach dem Versetzen des Blutes mit Extrakt der verschiedenen Organe desselben Tieres ein, wenn auch in quantitativ verschiedenem Ausmaß. Am

wirksamsten zeigte sich dabei die Nervensubstanz. In diesen Organextrakten muß also ein spezifischer wirksamer Bestandteil vorhanden sein; denn es läßt sich nachweisen, daß er einerseits im Extrakt zu erschöpfen ist, wenn man diesem immer neue Blutkörperchen zusetzt, und daß er andererseits an die Blutkörperchen, die mit ihm in Berührung gebracht werden, fixiert wird und sich später durch Ringerlösung wieder herauswaschen läßt. Zur Charakterisierung der wirksamen Substanz läßt sich soviel aussagen, daß sie erstens thermostabil ist, also den Eiweißkörpern nicht angehört, und daß sie weiter aus dem Organextrakt nicht in Aether übertritt, also nicht lipoiden Charakter haben kann, worauf die besonders starke Wirksamkeit des Nervengewebes hinzudeuten schien.

Zum Schluß bleibt mir noch die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. A. Gürber für die Uebernahme des Referates und die Anregung zu dieser Arbeit, und ihm wie Herrn Professor Dr. Frey für die freundliche Unterstützung bei derselben meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1. *Gürber*, Untersuchungen über die physiologischen Wirkungen der Lupetidine und verwandter Körper. Archiv für Anatomie und Physiologie 1890.
2. *H. van Ackeren,* Weitere Beiträge znr Wirkung des Piperidins auf die roten Blutkörperchen. Inauguraldissertation Würzburg.

Erklärung der Abbildung.

Rote Froschblutkörperchen mit Vakuolenbildung bei Einwirkung von hämolysiertem Blut.

Lebenslauf.

Ich, *Walter Engelbrecht,* wurde am 2. Juni 1892 als Sohn des Fabrikbesitzers *Carl Engelbrecht* in Cassel geboren. Ich besuchte die städtische Vorschule und das städtische Realgymnasium zu Cassel. Im September 1911 bestand ich die Reifeprüfung und bezog hierauf die Universität Marburg, um Medizin zu studieren. Im Mai 1914 bestand ich die ärztliche Vorprüfung in Marburg. Im Sommersemester 1914 weilte ich an der Universität München und trat am 2. August 1914 als Kriegsfreiwilliger ins bayrische Heer ein. Im März 1916 wurde ich zum Unterarzt und im Februar 1917 zum Feldhilfsarzt ernannt. Bis zum November 1918 war ich im Felde und wurde im Dezember 1918 aus dem Heere entlassen. Am 2. Oktober 1919 bestand ich die ärztliche Prüfung vor der Prüfungskommission in Marburg.